

	<p>Tarım Bilimleri Dergisi Tar. Bil. Der.</p> <p>Dergi web sayfası: www.agri.ankara.edu.tr/dergi</p>	<p>Journal of Agricultural Sciences</p> <p>Journal homepage: www.agri.ankara.edu.tr/journal</p>
---	--	---

Esmer ve Siyah Alaca Irkı Sığırlarda Bazı Ekonomik Özellikler ile İlişkili Gen Bölgelerinin PCR-RFLP Tekniği ile İncelenmesi

Şule ŞAHİN^a, Yasemin ÖNER^a, Cengiz ELMACI^a

^aUludağ Üniversitesi, Ziraat Fakültesi, Zootečni Bölümü, 16059, Görükle, Bursa, TÜRKİYE

ESER BİLGİSİ

Araştırma Makalesi— Hayvansal Üretim

Sorumlu Yazar: Yasemin ÖNER, E-posta: yaseminoner@yahoo.com, Tel: +90 (224) 294 15 62

Geliş Tarihi: 02 Nisan 2013, Düzeltmelerin Gelişi: 31 Mayıs 2013, Kabul: 22 Temmuz 2013

ÖZET

Bu çalışmada, Bursa'nın Karacabey ilçesinde yetiştirilen Siyah Alaca ve Esmer sığır ırkından 136 baş sığırdaki bazı verim özellikleri ile ilişkili oldukları düşünülen kalpain (*CAPNI*), östrojen reseptör α (*ER\alpha*), prolaktin (*PRL*) ve miyostatin (*MSTN*) genlerindeki çeşitli polimorfizmler PCR-RFLP yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Hem Siyah Alaca hem de Esmer sığır ırkı *MSTN* geni bakımından monomorfik bulunurken, *CAPNI*, *ER\alpha* ve *PRL* genlerinin 2'şer alleli belirlenmiştir. Her 2 ırkın *CAPNI* lokusunda 3 genotip (CC, CT ve TT) belirlenirken, Siyah Alaca ırkının *PRL* lokusunda 2 (AG ve GG), Esmer sığır ırkının *PRL* lokusunda ise 3 genotip (AA, AG ve GG) belirlenmiştir. Her 2 ırkın *ER\alpha* lokusunda ise 2 genotip (AG ve GG) belirlenmiştir. Esmer ırkın *PRL* lokusu dışında incelenen tüm lokuslar bakımından Siyah Alaca ve Esmer sığır sürülerinin Hardy-Weinberg dengesinde olduğu saptanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Sığır; Polimorfizm; *CAPNI*; *ER\alpha*; *PRL*; *MSTN*

An Investigation on Gene Regions Related to Some Economic Traits in Holstein and Brown Swiss Cattle Breeds by Using PCR-RFLP Technique

ARTICLE INFO

Research Article — Animal Production

Corresponding Author: Yasemin ÖNER, E-mail: yaseminoner@yahoo.com, Tel: +90 (224) 294 15 62

Received: 02 April 2013, Received in Revised Form: 31 May 2013, Accepted: 22 July 2013

ABSTRACT

In this study, the polymorphisms in calpain (*CAPNI*), estrogen receptor α (*ER\alpha*), prolactin (*PRL*), and myostatin (*MSTN*) genes thought to be related to some economical traits were investigated in 136 heads from Holstein and Brown Swiss cattle breeds reared in Karacabey town of Bursa by using PCR-RFLP method. While *MSTN* locus was found as monomorphic, 2 alleles of each *CAPNI*, *ER\alpha* and *PRL* genes were determined in both breeds. While 3 genotypes (CC, CT, and TT) were determined at *CAPNI* locus of both breeds, 2 genotypes (AG and GG) and 3 genotypes (AA, AG, and GG)

were determined at *PRL* locus of Holstein and Brown Swiss breeds, respectively. Two genotypes (AG and GG) were detected at *ERα* locus in both breeds. Both two populations were found at Hardy-Weinberg equilibrium except for *PRL* locus in Brown Swiss population.

Keywords: Cattle; Polymorphism; *CAPNI*; *ERα*; *PRL*; *MSTN*

© Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi

1. Giriş

Hayvancılıkta verimin artırılması için yapılan uygulamaların en önemlilerinden biri seleksiyondur. Ekonomik karakterlerin hemen hepsi çok küçük eklemeli etkileri olan çok sayıda gen tarafından kontrol edilen ve çevre koşullarından fazlaca etkilenen kantitatif karakterlerdir. Bu durum kantitatif karakterler bakımından yapılan seleksiyonu yavaşlatmakta ve güçleştirmektedir. Son yıllarda moleküler genetik ve bilgisayar uygulamalarındaki hızlı gelişmeler sayesinde kantitatif karakterlerde gözlenen varyasyonda payı olan genlerin belirlenmesi mümkün hale gelmiştir. Yaşamlarının erken dönemlerinde erkek ve dişi çiftlik hayvanlarının söz konusu genomik bölgeler bakımından genotiplendirilmesi mümkün olduğundan bunların hayvan ıslahında kullanılabilir hale gelmesi, ıslah ve seleksiyon çalışmalarının hız ve etkinliğini arttıracaktır. Ancak bu şekilde yapılan seleksiyon, farklı allelerin popülasyondaki dağılımlarına ve farklı allellerin ekonomik karakterler üzerindeki etkisine bağlıdır. Türkiye’de son yıllarda özellikle sığır ırklarının ekonomik karakterlerini etkileyen genlerdeki polimorfizmi konu alan araştırma sayısında önemli bir artış olduğu gözlenmektedir (Öztabak et al 2008; 2010; Öner et al 2011; Akyüz et al 2012; 2013; Korkmaz & Akyüz 2013). Türkiye’de yetiştirilen yerli ve kültür ırklarının söz konusu gen bölgeleri bakımından genetik yapısının ortaya çıkarılması yetiştiricilik faaliyetlerinin planlanması ve yürütülmesi için gerekli bir adım olması nedeniyle bu durum son derece umut vericidir.

Günümüzde çiftlik hayvanlarında et ve süt verimi ve üreme faaliyetleri gibi ekonomik karakterler ile ilişkili olduğu bilinen ve seleksiyonda kullanılabilir çok sayıda aday gen bulunmaktadır.

Et verim ve kalitesi bakımından Leptin (*LEP*), Insulin-like growth factor-I (*IGF-I*) ve Myostatin (*MSTN*) (Grobet et al 1998; Ge et al 2001; Oprzadek et al 2003), süt verimi bakımından Beta laktoglobulin (β -lg), Diacylglycerol acyltransferase 1 (*DGAT1*) ve Prolactin (*PRL*), (Chung et al 1996; Spelman et al 2002; Heidari et al 2012) ve üreme faaliyetleri bakımından Progesteron reseptör (*PRG*) ve Osteopontin (*OPN*) (Moura et al 2007; Driver et al 2009) seleksiyonda kullanılabilir aday genlere örnek olarak verilebilirler.

Bu çalışmada et verim ve kalitesine, süt verim ve kompozisyonuna ve üreme faaliyetlerine etkileri olduğu saptanmış 4 gendeki polimorfizmlerin PCR-RFLP yöntemi ile incelenmesi amaçlanmıştır. Bunun için Bursa ilinin Karacabey ilçesinde yetiştirilen Esmer ve Siyah Alaca sürülerinde *PRL* geninin 4. ekzonunun 8398. nükleotidindeki A→G, *MSTN* geninin 3. ekzonunun 938. nükleotidindeki G→A, *CAPNI* geninin 14. intronunda, 4685. nükleotidindeki C→T ve *ERα* geninin 5' UTR kısmında, 1. ekzonun olası transkripsiyon başlangıç bölgesinde 2429. nükleotidindeki A→G transisyonlarının varlığı/yokluğu uygun restriksiyon enzimleri kullanılarak incelenmiştir.

Kalpain aktivitesi kalsiyumun varlığına bağlı olan bir sitoplazmik sisten proteaz olup (Sorimachi et al 1997), et kalitesi ile yakından ilişkili myofibrillar proteinlerin yıkılmasından sorumludur (Wheeler et al 1997). Kalpainin μ - ve m - olmak üzere 2 izoformu vardır. Her 2 kalpaini kodlayan gen sığırın 29. kromozomunda bulunmaktadır. μ -kalpain myofibrillar proteinlerin yıkımını gerçekleştirdiğinden, et gevrekliğine etki eden önemli enzimlerden birisidir (Koochmaria 1996). Şimdiye kadar *CAPNI* geninde oldukça fazla sayıda SNP bildirilmiştir (Page et al 2002; 2004; Juszczuk-

Kubiak et al 2004; White et al 2005). Bu SNP'lerin büyük kısmı intronlarda bulunmakta veya amino asit değişimine neden olmamaktadır (Page et al 2002; 2004; Juszczuk-Kubiak et al 2004).

Östrojen reseptörleri diğer çekirdek reseptörleri gibi transkripsiyon faktörleridirler ve gen transkripsiyonunu düzenlerler (Metivier et al 2000). Memelilerde östrojenler, üreme, hücre büyümesi ve farklılaşması, meme dokusu gelişimi, süt salgılanması, homeostasi gibi birçok hayati faaliyeti düzenlerler (Eng et al 1997). Östrojen reseptörlerini kodlayan genler üstlendikleri önemli görevlerden dolayı çiftlik hayvanlarında hem işlevsel hem de üretimle ilgili özellikler bakımından seleksiyonda kullanılabilir aday genler olarak düşünülmektedirler.

Östrojen reseptörünün (*ER*) α ve β olarak bilinen, farklı kromozomlarda bulunan, farklı genler tarafından kodlanan 2 izoformu olduğu bilinmektedir. *ER α* sığır genomunun 9. kromozomunda bulunmaktadır ve çok sayıda dokudan, bol miktarda salgılanmaktadır. *ER β* ise sığır genomunun 10. kromozomunda bulunmakta ve sınırlı sayıda dokudan, az miktarda salgılanmaktadır (Pfaffl et al 2001). "Knock-out" farelerde *ER* genlerinin inaktivasyonu ile gerçekleştirilen bir çalışma (Korach 1994) *ER α* ve *ER β* genlerinin işlevlerinin de farklı olduğunu göstermektedir. İşlevsel *ER α* reseptörlerinin olmayışı hem erkek, hem de dişilerde kısırığa yol açarken, *ER β* geninin işlevlerini kaybetmesi sadece fertilitede hafif bir düşüşe neden olmuştur.

Growth Differentiation Factor-8 (*GDF-8*) olarak da bilinen myostatin TGF-B (Transforming Growth Factor-B) ailesinin bir üyesidir. Özellikle gelişmekte olan iskelet kaslarında sentezlenen *GDF-8*, iskelet kası büyümesinde ve farklılaşmasında rol oynamaktadır. Kalıtılabilir bir karakter olan "çift kaslılık", muscular hypertrophy (*mh*) olarak da bilinir ve kas kütlesinin aşırı gelişmesi olarak tanımlanır. Bu özelliğe sahip hayvanların karkasları yüksek miktarda kas kütlesi ve düşük miktarda yağdan oluşmaktadır (Arthur 1995; Bellinge et al 2004). Bu durumun ortaya çıkmasında myostatin

geninde meydana gelen bazı mutasyonların rolü olduğu uzun zamandır bilinmektedir (Grobet et al 1998). Myostatin genini kodlayan DNA dizilerinde meydana gelen mutasyonlar kas-kütle artışını sağlamış ve bu artış çift kaslılık olarak tanımlanmıştır. Myostatin geninin inaktivasyonu sonucu çift kaslılık ortaya çıkmaktadır. Çift kaslı etçi ırkların ticari kullanımı yüksek et verimleri ve kaliteleri nedeniyle arzu edilen bir durumken, buzağılama zorluğuna neden olması istenmeyen bir durum olarak değerlendirilebilir. Myostatin (*GDF-8*) geni sığırlarda 2. kromozomda yer almakta, 3 ekzon ve 2 introndan meydana gelmektedir. Son yıllarda birçok Avrupa sığır ırkı myostatin genindeki çeşitli polimorfizmler bakımından incelenmiş, oldukça fazla sayıda mutasyon saptanmıştır. Ancak bunların birçoğu kalpain geninde olduğu gibi sessiz veya nötral mutasyonlardır. Myostatin geninin çift kaslı sığırlarda işlev kaybına neden olan 6 mutasyonu tanımlanmıştır (Grobet et al 1998; Karim et al 2000).

Prolaktin (*PRL*) memelilerde hipofizden salgılanan ve biyolojik faaliyetler açısından birçok işlevi olan bir hormondur. Sığır prolaktin geni 23. kromozomda yer alan, 5 ekzondan meydana gelen ve 199 amino asitlik protein sentezleyen bir genidir (Wallis 1974; Camper et al 1984; Hallerman et al 1988). Hayvancılık açısından üzerinde durulan en önemli işlevlerinden birisi laktasyonun başlatılması ve sürdürülmesinde oynadığı roldür. Bu işlevi süt proteinlerinin sentezlenmesi ve salgılanması için meme alveollerini uyararak gerçekleştirir. Bunun yanı sıra tüm temel süt bileşenlerinin sentezlenmesinden sorumludur. Üreme faaliyetleri ve bağışıklık fonksiyonları üzerinde de etkileri vardır. Tüm bu işlevleri *PRL*'i hayvansal üretim açısından ilgi çekici hale getirmektedir. Süt sığırlarında prolaktin genine ait çeşitli polimorfizmler ve bunların süt verimi, süt yağ ve protein düzeyi gibi karakterler ile olan ilişkileri gösterilmiştir (Lewin et al 1992; Chung et al 1996)

2. Materyal ve Yöntem

2.1. Örneklerin alınması ve DNA izolasyonu

Çalışmada Bursa'nın Karacabey ilçesindeki 4 işletmede bulunan 70 baş Siyah Alaca ve 3 işletmede bulunan 66 baş Esmer sığırdan alınan kan örnekleri *ERα*, *PRL* ve *MSTN* genlerindeki polimorfizmleri incelemek için kullanılmıştır. *CAPNI* geni polimorfizmi ise Siyah Alaca ve Esmer ırktan sırasıyla 65 ve 62 baş hayvandan alınan kan örneklerinde incelenmiştir.

DNA izolasyonunda kullanılacak kan örnekleri, sığırların boyun bölgesindeki *vena jugularis*' den antikoagulantlı (K3 EDTA'lı), vakumlu tüplere alınmış ve soğuk zincir altında laboratuvara getirilmiştir. DNA izolasyonları hazır DNA izolasyon kiti (Fermentas, K0512) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Elde edilen DNA'ların çoğaltılması amacıyla PCR uygulamalarına geçmeden önce, DNA'ların kalitatif ve kantitatif kontrolleri spektrofotometrik yöntem ve % 1'lik agaroz jel ile belirlenmiştir.

2.2. PCR işlemi ve RFLP analizleri

Elde edilen DNA'ların ilgili gen bölgelerinin çoğaltılmasında ve kesim ürünleri elde edilmesinde Çizelge 1'de sunulan primerler ve restriksiyon enzimleri kullanılmıştır. Gen bölgelerinin çoğaltılması için, 50-100 ng genomik DNA her primerden 0.5 µM ve 12.5 µl 2XPCR Master Mix

(Fermentas, K0171)'den oluşan 25 µl reaksiyon karışımı hazırlanmıştır. PCR koşullarının oluşturulmasında kullanılan erime sıcaklıkları (T_m) ve kesim noktasının gen içerisinde bulunduğu bölge Çizelge 1'de verilmiştir.

Elde edilen PCR ürünleri her bölgeye özel restriksiyon enzimi ile kesilmiş, *CAPNI* ve *ERα* lokuslarına ait kesim ürünleri % 2'lik agaroz jelde, *PRL* ve *MSTN* lokuslarına ait kesim ürünleri ise % 2.5 ve % 3'lük agaroz jellerde UV ışığı altında gözlenmiştir.

Kan örneklerinin alındığı hayvanlardan hiçbirisi çift kashlık özelliği göstermediği için myostatin geninde söz konusu kesim noktasında herhangi bir polimorfizm beklenmemiş, çoğaltılan bölgenin tamamında başka bir mutasyon olup olmadığının araştırılması için 124 bazlık bu bölgenin dizi analizi yapılmıştır. Bu amaçla elde edilen PCR ürünleri ticari kit kullanılarak temizlendikten sonra DNA dizi analizi (REFGEN Ltd. Şti., Ankara) yapılmıştır. DNA dizi analizi için, PCR işleminde kullanılan primerler kullanılmıştır. Gen ve genotip frekanslarının hesaplanması ve popülasyonların Hardy-Weinberg dengesinde olup olmadığı POPGENE 1.32 programı ile belirlenmiştir (Yeh et al 1997).

4. Bulgular ve Tartışma

PCR ürünleri ve incelenen her bir lokusa ait allel büyüklükleri Çizelge 2'de belirtilmiş, elektroforetik görüntüleri Şekil 1, 2, 3 ve 4'te sunulmuştur. Her

Çizelge 1- Çalışmada kullanılan primer dizileri ve restriksiyon enzimleri

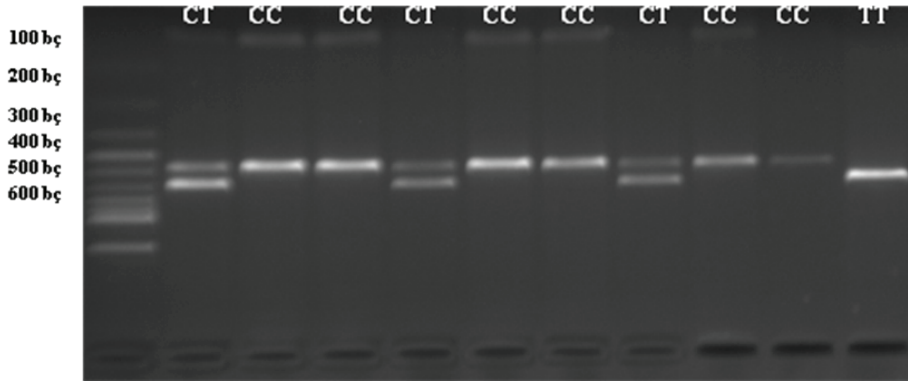
Table 1- Primer sequences and restriction enzymes used in the study

Lokus	Primer (5' → 3')	Bölge	T_m (°C)	Enzim	Kaynak
<i>CAPNI</i>	TTCAGGCCAATCTCCCCGACG GATGTTGAACTCCACCAGGCCAG	14. intron	62	<i>FokI</i>	Juszczuk-Kubiak et al 2004
<i>ERα</i>	TTTGGTTAACGAGGTGGAG TGTGACACAGGTGGTTTTTC	5' UTR	53	<i>BglI</i>	Szreder & Zwierzchowski 2004a
<i>PRL</i>	CCAAATCCACTGAATTATGCTT ACAGAAATCACCTCTCTCATTCA	4. ekzon	58.5	<i>RsaI</i>	Brym et al 2005
<i>MSTN</i>	CCAATTACTGCTCTGGAGGAT GGAGACATCTTTGTAGGAGTACAGC	3. ekzon	60	<i>BstF5I</i>	Stasio & Rolando 2005

Çizelge 2- PCR ürünlerine ve allelere ait parça büyüklükleri

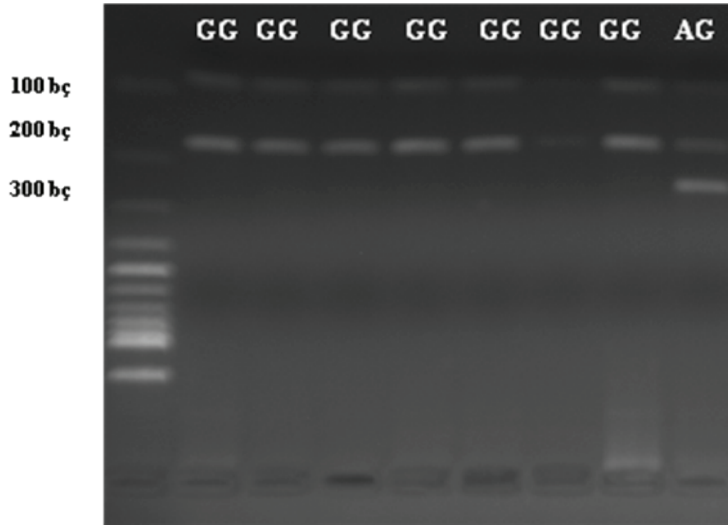
Table 2- Fragment sizes of PCR products and alleles

Lokus	Kesilmemiş PCR ürünü	Kesim ürünü (bç)		
<i>CAPN1</i>	670	CC 530,140	CT 670,530,140	TT 670
<i>ER-α</i>	242	AA 242	AG 242,182,60	GG 182,60
<i>PRL</i>	294	AA 162,132	AG 294,162,132	GG 294
<i>MSTN</i>	124	+/+ 100,24	+/- 124,100,24	-/- 124



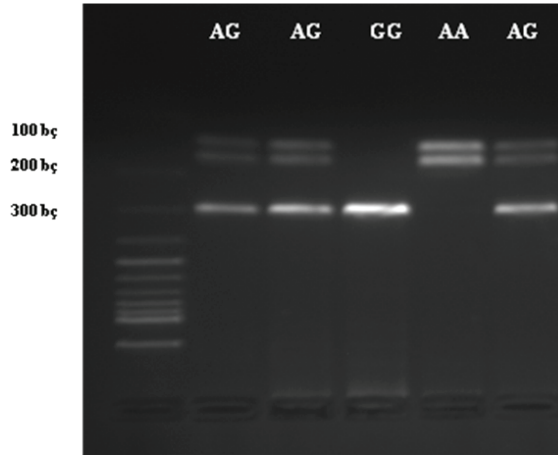
Şekil 1- *CAPN1* genotiplerinin elektroforetik görüntüsü

Figure 1- Electrophoretic illustration of *CAPN1* genotypes



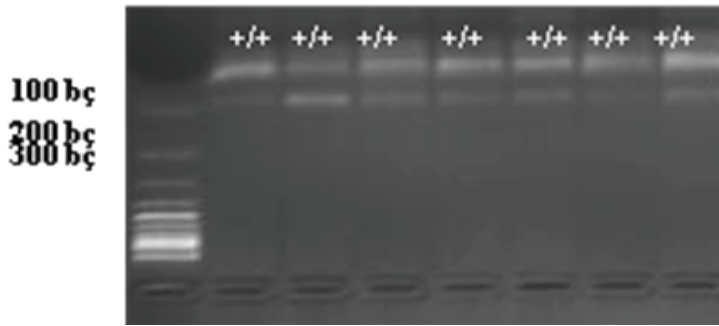
Şekil 2- *ERα* genotiplerinin elektroforetik görüntüsü

Figure 2- Electrophoretic illustration of *ERα* genotypes



Şekil 3- *PRL* genotiplerinin elektroforetik görüntüsü

Figure 3-Electrophoretic illustration of *PRL* genotypes



Şekil 4- *MSTN* genotiplerinin elektroforetik görüntüsü

Figure 4- Electrophoretic illustration of *MSTN* genotypes

2 ırkın *CAPNI*, *ERα* ve *PRL* lokuslarında 2 allel belirlenmiştir (Çizelge 3). Her 2 ırkın *CAPNI* lokusunda 3 genotip (CC, CT ve TT), Siyah Alaca ırkının *PRL* lokusunda 2 (AG ve GG) ve Esmer ırkın *PRL* lokusunda 3 genotip (AA, AG ve GG) bulunmuştur. Her 2 ırkın *ERα* lokusunda ise AG ve GG genotipleri belirlenmiş, AA genotipine rastlanmamıştır.

χ^2 analizine göre Esmer ırka ait *PRL* lokusu dışında her 2 popülasyonun incelenen lokuslar bakımından Hardy-Weinberg dengesinde olduğu belirlenmiştir. Myostatin geni bakımından her 2 popülasyon da beklenildiği gibi yabancı allel (+/+)

bakımından monomorfik bulunmuştur. Örneklerin elde edildiği hayvanların hiçbiri fenotipik olarak çift kaslılık özelliği göstermediğinden bu durum beklenen bir sonuçtur. Dizi analizinde de 124 bazlık bu bölgede herhangi bir farklı mutasyona rastlanmamıştır. Myostatin geninin 3. ekzonunun 938. pozisyonunda çift kaslılığa neden olan G→A transisyonunun ırka özel bir mutasyon olduğu düşünülmektedir (Stasio & Rolando 2005). Ancak yine de bu çalışmada olduğu gibi Boz Irk, Yerli Kara, Kilis Irkı, Doğu Anadolu Kırmızısı, Yerli Sarı, Siyah Alaca ırkları olmak üzere Türkiye’de yetiştirilen 6 sığır ırkında bu mutasyonun bulunmadığı bildirilmiştir (Öz 2009).

Myostatin dışındaki diğer 3 lokus bakımından elde edilen sonuçlar, daha önce bu lokusların incelendiği çalışmalardan elde edilen sonuçlar ile uyumludur. Önceki çalışmalardan elde edilen sonuçlara göre allel ve genotiplerin frekans dağılımları ırklar arasında farklılık göstermektedir. Etin gevrekliğinde etkili bir aday gen olan *CAPN1* genindeki 14. intron Juszcuk-Kubiak et al (2004) tarafından Avrupa sığır ırklarında incelenmiş ve bizim çalışmamızda predominant olan C allelinin frekansının 0.30-0.83 arasında değiştiği saptanmıştır. Nadir allel T'nin frekansının ise Charolaise ırkında 0.70'e kadar ulaştığı görülmektedir. Aynı araştırmacılar allel ve genotiplerin frekans dağılımlarının ırklara göre değiştiğini ve ayrıca TT genotipinin et kalitesi bakımından CC genotiplilere göre daha avantajlı olduğunu bildirmişlerdir. Esmer ve Siyah Alaca ırklarının incelendiği bu çalışmada sütü bir ırk olan Siyah Alaca ırkında TT genotipinin frekansının, Esmer ırktaki TT genotipinin frekansına göre oldukça düşük bulunması çarpıcı bir sonuçtur.

Türkiye'de yaygın olarak yetiştirilen sığır ırklarından Esmer ve Siyah Alacada *ERα* polimorfizmi ilk kez bu çalışmada incelenmiştir. Türkiye'de yetiştirilen sığır ırklarının bu lokusları üzerinde herhangi bir çalışmaya rastlanmazken Akkaraman, İvesi ve Sakız yerli koyun ırklarının *ERα*'nın 4. ekzonundaki polimorfizmi DNA dizi analiz yöntemiyle incelenmiş, Sakız ırkının, diğer 2 ırktan farklı gruplandığı görülmüştür (Ozmen et al 2011). Prolifik bir ırk olduğu bilinen Sakız'ın ortaya koyduğu bu sonuç söz konusu genin üreme faaliyetleri bakımından oynadığı role dikkat çekmektedir.

Dünya genelinde *ERα* polimorfizmiyle ilgili çalışmalar domuz türünde yoğunlaşmıştır (Chen et al 2000; Drogemüller et al 2001; Gibson et al 2002). Domuzlarda *ERα* geninin kodlama yapan ve yapmayan bölgelerinde bildirilen mutasyonlar ile batın genişliği ve yavruların yaşama gücü arasında ilişkiler saptanmıştır (Rotschild et al 1996; Kmiec et al 2002; Gibson et al 2002). Sığırlarda yapılan çalışmaların ise sınırlı olduğu ve mevcut çalışmaların genellikle tek bir araştırma grubu tarafından gerçekleştirildiği (Szreder & Zwierzchowski 2004a,b; Szreder & Zwierzchowski 2007; Szreder

et al 2007; 2011) gözlenmektedir. Bildirilen mutasyonların çeşitli verim özellikleri üzerine etkilerinin incelendiği araştırma sayısı da oldukça sınırlıdır (Szatkowska et al 2011; Zahmatkesh et al 2012). Sığır *ERα* geninin kodlama yapan ve yapmayan çeşitli bölgelerini kapsayan 2853 bç'lik bir bölgesi ilk kez Szreder & Zwierzchowski (2004a) tarafından ortaya konulmuştur. Araştırmacıların belirledikleri çok sayıda mutasyondan birisi de *ERα* geninin 5' UTR bölgesinde, 1. ekzonun olası transkripsiyon bölgesinde meydana gelen ve *BglI* restriksiyon enzimi için tanıma bölgesi oluşturan A->G transisyonudur. Bu mutasyon genin ekspresyonu ve verim özellikleri bakımından üzerinde durulması gereken bir mutasyondur. Bu mutasyon ilk kez Szreder & Zwierzchowski (2004a) tarafından Avrupa kökenli ırklarda gerçekleştirilen bir çalışmada incelenmiş ve G allelinin çalışmamızda olduğu gibi predominant olduğu ve frekans değerlerinin 0.82-1.00 arasında değiştiği bildirilmiştir. Szreder & Zwierzchowski (2004a) de AA genotipine rastlamamışlar ve A allelini oldukça düşük frekansta belirlemişlerdir. Szatkowska et al (2011) ise Polonya'daki Siyah Alaca ırkında A allelini ve AA genotipini oldukça yüksek frekansta bulmuşlar ve farklı genotiplerin doğumdan tekrar gebe kalma arasında geçen süre üzerine etkisinin farklı olduğunu bildirmişlerdir. Szatkowska et al (2011) ilk laktasyondaki heterozigot bireylerin doğumdan daha kısa bir zaman sonra gebe kaldıklarını bildirmişlerdir. Zahmatkesh et al (2012) ise İran'da 4 farklı sürüden Siyah Alaca ineklerde *ERα* polimorfizmi ile buzağı doğum ağırlığı arasındaki ilişkileri incelemişler, bizim çalışmamızda olduğu gibi G allelinin ve GG genotipinin predominant olduğunu ve bazı sürülerde AA genotipinin ve A allelinin bulunmadığını gözlememişlerdir. Ancak İran'da yetiştirilen bu Siyah Alaca popülasyonlarında *ERα* alleleri ve genotipleri ile buzağı doğum ağırlığı arasında önemli bir ilişki belirlenmemiştir. Çeşitli döl ve üreme özellikleri ile *ERα* polimorfizmi arasındaki ilişkilerin incelendiği araştırma sayısının artırılması gerekliliği açıktır. Ancak Szreder et al (2007)'ın Avrupa kökenli çeşitli ırklarda *ERα* geninin başka bir bölgesini araştırmışlar ve allel ve genotip

dağılımını *ERα -BglI* polimorfizminde olduğu gibi dengesiz bulmuşlardır. Szreder et al (2007) herhangi bir allelin çok nadir oluşu ya da hiç bulunmayışının performans ilişkilerinin araştırılmasına yönelik çalışmalar açısından bir eksiklik olduğunun unutulmaması gerektiğini bildirmektedirler.

Hem Türkiye yerli sığır ırklarında (Kepenek 2007; Öztapak et al 2008) hem de kimi ülkelerde yetiştirilen sığır ırklarında (Mitra et al 1995; Udina 2001; Dybus 2002; Sacravarty et al 2008; Mehmannaavaz et al 2009) potansiyel bir genetik marker olarak *PRL*'nin polimorfizmi üzerinde gerçekleştirilen çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Prolaktin geninin 3. ekzonunda bulunan bu polimorfizmin süt verim özellikleri ile de ilişkisi üzerinde durulmuştur (Chung et al 1996; Dybus 2002). Bu çalışmada, prolaktin geninin 4. ekzonunda ilk kez Brym et al (2005) tarafından bildirilen G->A transisyonu incelenmiş, G alleli ve GG genotipi predominant, A alleli ve AA genotipi ise daha düşük frekansta bulunmuştur. Elde edilen allelik frekans değerlerinin Brym et al (2005)'in Polonya'da yetiştirilen Siyah Alaca sığır ırklarında hesapladıkları frekans değerleri ile uyumlu olduğu görülmüştür. Brym et al (2005) AG genotipli ineklerin daha yüksek süt verimine, GG genotiplilerin ise daha yüksek yağ içeriğine sahip olduklarını belirtmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise Esmer popülasyonunda A allelinin orta değerdeki frekansı söz konusu lokustaki allel frekanslarının ırklar arasında farklılık gösterdiğini ortaya koymaktadır.

5. Sonuçlar

Çeşitli verim özelliklerine etkisi olduğu bilinen genler bakımından hem yerli hem de kültür ırkı popülasyonlarımızın genetik kompozisyonlarının ortaya konulmasının gerekliliği açıktır. Türkiye'de sığır yetiştiriciliğinde ağırlıklı olarak ithal ırklar rol oynamaktadır. Bu nedenle bu gen bölgeleri bakımından genetik kompozisyonun yurt dışından getirilen sığır ırklarında da belirlenmesi hem yetiştiricilik faaliyetlerinin etkinliğinin artırılması hem de ithal edilen hayvanların genetik kapasitelerinin tahmin edilmesi bakımından önem taşımaktadır. Ayrıca çeşitli verim özellikleri ile ilgili gen bölgelerindeki polimorfizmler arasındaki ilişkilerinin incelendiği

çalışma sayısının artırılması ve ekspresyon düzeyindeki çalışmalar bakımından var olan boşluğun bir an evvel doldurulması gerekmektedir.

Kaynaklar

- Akyuz B, Korkmaz A O & Ertugrul O (2012). Genetic polymorphism of kappa-casein, growth hormone and prolactin genes in Turkish native cattle breeds. *International Journal of Dairy Technology* **65**(1): 38-44
- Akyuz B, Arslan K, Bayram D & İşcan K M (2013). Allelic frequency of kappa-casein, growth hormone and prolactin gene in Holstein, Brown Swiss and Simmental cattle breeds in Turkey. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* DOI: 10.9775/kvfd.2012.7985
- Arthur P F (1995). Double muscling in cattle: a review. *Australian Journal of Agricultural Research* **46**: 1493-1515
- Bellinge R H S, Liberles D A, Laschi S P A, Brien, O & Tay G K (2004). Myostatin and its implications on animal breeding: a review. *Animal Genetics* **36**: 1-6
- Brym P, Kaminski S & Wojcik, E (2005). Nucleotide sequence polymorphism within exon 4 of the bovine prolactin gene and its associations with milk performance traits. *Journal of Applied Genetics* **45**: 179-185
- Camper S A, Luck D N, Yao, Y, Woychik R P, Goodwin R G, Lyons R H & Rottman F M (1984). Characterization of the bovine prolactin gene. *DNA* **3**: 237-249
- Chen K F, Huang L S, Li N, Zhang Q, Luo M & Wu C X (2000). The genetic effect of estrogen receptor (ESR) on litter size traits in pig. *Yi Chuan Xue Bao* **27**(10): 853-857
- Chung E R, Rhim T J & Han S K (1996). Associations between PCR-RFLP markers of growth hormone and prolactin genes and production traits in dairy cattle. *Korean Journal of Animal Science* **38**: 321-336
- Driver A M, Huang W, Gajic S, Monson R L, Rosa G J M & Khatib H (2009). Short communication: effects of the progesterone receptor variants on fertility traits in cattle. *Journal of Dairy Science* **92**: 4082-4085
- Drogemüller C, Hamann H & Distl O (2001). Candidate gene markers for litter size indifferent German pig lines. *Journal of Animal Science* **79**(10): 2565-2570
- Dybus A (2002). Associations of growth hormone (*GH*) and prolactin (*PRL*) genes polymorphisms with milk production traits in Polish Black- and White- cattle. *Animal Science Papers and Reports* **20**: 203-212

- Eng F C S, Lee H S, Ferrara J, Willson T M & White J H (1997). Probing the structure and function of the estrogen receptor ligand binding domain by analysis of mutants with altered transactivation characteristics. *Molecular and Cellular Biology* **17**: 4644-4653
- Ge W, Davis, M E, Hines H C, Irvin K M & Simmen R C M. (2001). Association of a genetic marker with blood serum insulin-like growth factor-I concentration and growth traits in Angus cattle. *Journal of Animal Science* **79**: 1757-1762
- Gibson J P, Jiang Z H, Robinson J A, Archibald A L & Haley C S (2002). No detectable association of the ESR *PvuII* mutation with sow productivity in a Meishan x Large White F2 population. *Animal Genetics* **33**(6): 448-450
- Grobet L, Poncelet D, Royo L J, Brouwers B, Pirottin D, Michaux C, Menissier F, Zanotti M, Dunner S & Georges M (1998). Molecular definition of an allelic series of mutations disrupting the myostatin function and causing double muscling in cattle. *Mammalian Genome* **9**: 210-213
- Hallerman E M, Theilmann J L, Beckmann J S, Soller M & Womack, J E (1988). Mapping of bovine prolactin and rhodopsin genes in hybrid somatic cells. *Animal Genetics* **19**: 123-131
- Heidari M, Azari M A, Hasani S, Khanahmadi A & Zerehdaran S (2012). Effect of polymorphic variants of GH, Pit-1, and beta-LG genes on milk production of Holstein cows. *Genetika* **48**(4): 503-507
- Juszczuk-Kubiak E, Sakowski T, Flisikowski K, Wicinska K, Oprzadek J & Rosochacki S J (2004). Bovine mucapain (*CAPNI*) gene: new SNP within intron 14. *Journal of Applied Genetics* **45**(4): 457-460
- Karim L, Coppeters W, Grobet L, Valentini A & Georges M (2000). Convenient genotyping of six myostatin mutations causing doublemuscling in cattle using a multiplex oligonucleotide ligation assay. *Animal Genetics* **31**: 396-399
- Koohmaraie M (1996). Biochemical factors regulating the toughening and tenderization process of meat. *Meat Science* **43**: 193-201
- Korach, SK (1994). Insights from the study of animals lacking functional estrogen receptor. *Science* **266**: 1524-1527
- Korkmaz A O & Akyuz B (2013). Growth hormone gene polymorphism in four cattle breeds in Turkey. *Kafkas Universitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* DOI: 10.9775/kvfd.2012.7961
- Kmiec´ M, Dvorak J & Vrtkova I (2002). Study on a relation between estrogen receptor (*ESR*) gene polymorphism and some pig reproduction performance characters in Polish Landrace breed. *Czech Journal of Animal Science* **47**: 189-193
- Kepenek E Ş (2007). Polymorphism of prolactin (*PRL*), diacylglycerol acyltransferase 1 (*DGAT 1*) and bovine solute carrier family 35 member 3 (*SCL35A3*) genes in native cattle breeds and its implication for Turkish cattle breeding. M.Sc Thesis M.E.T.U Department of Biological Science (unpublished), Ankara
- Lewin H A, Schmitt K, Hubert R, Van Eijk M J & Arnheim, N (1992). Close linkage between bovine prolactin and BoLA-DRB3 genes: mapping in cattle by single sperm typing. *Genomics* **13**: 44-48
- Moura A A, Chapman D A & Killian G J (2007). Proteins of the accessory sex glands associated with the oocyte-penetrating capacity of cauda epididymal sperm from holstein bulls of documented fertility. *Molecular Reproduction and Development* **74**: 214-222
- Mehmannavaz Y, Amirinia C, Bonyadi M & Torshizi R V (2009). Effects of bovine prolactin gene polymorphism within exon 4 on milk related traits and genetic trends in Iranian Holstein bulls. *African Journal of Biotechnology* **8**(19): 4797-4801
- Metivier R, Petit F G, Valotaire Y & Pakdel F (2000). Function of N-terminal transactivation domain of the estrogen receptor requires a potential α -helical structure and is negatively regulated by the A domain. *Molecular Endocrinology* **14**(11): 1849-1871
- Mitra A, Schlee P, Balakrishnan C R & Pirschner F (1995). Polymorphism at growth hormone and prolactin loci in Indian cattle and buffalo. *Journal of Animal Breeding and Genetics* **112**: 71-74
- Oprzadek J, Flisikowski K, Zwierzchowski L & Dymnicki E (2003). Polymorphisms at loci of Leptin (*LEP*), *Pit1* and *STAT5A* and their association with growth, feed conversion and carcass quality in Black-and White bulls. *Animal Science Paper and Reports* **21**(3): 135-145
- Ozmen O, Seker I, Cinar Kul B & Ertugrul O (2011). Haplotype variation of exon 4 estrogen reseptor- α (*ER α*) gene in Turkish sheep breeds. RBI 8th Global Conference on Conservation of Animal Genetic Resources. 465-466 pp. Namik Kemal University, Tekirdağ, Türkiye, 4-8 October 2011
- Oztabak K, Un C, Tesfaye D, Akis I & Mengi A (2008). Genetic polymorphisms of osteopontin (*OPN*), prolactin (*PRL*) and pituitary-specific transcript factor-1 (*PIT-1*) in South Anatolian and East Anatolian Red cattle. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section A – Animal Science* **58**: 109-112
- Öner Y, Pullu M, Akin O & Elmacı C (2011). Bursa bölgesinde yetiştirilen İsviçre Esmeri ve Siyah Alaca ırkı sığırlarda beta laktoglobulin (β -lg) ve büyüme

- hormonu (*bGH*) gen polimorfizmlerinin *HaeIII* ve *MspI* restriksiyon enzimleri kullanılarak incelenmesi. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* **17**(3): 371-376
- Öz A (2009). Yerli sığır ırklarında myostatin gen polimorfizminin araştırılması. Yüksek lisans tezi. Ç.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü (Basılmamış), Zootekni Anabilim Dalı, Adana
- Öztabak K, Tokar N Y, Ün C, Akış I, Mengi A, Karadağ O & Soysal D (2010). Leptin gene polymorphism in native Turkish cattle breeds. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi* **16**(6): 921-924
- Page B T, Casas E, Heaton M P, Cullen N G, Hyndman D L, Morris C A, Crawford A M, Wheeler T L, Koohmaraie M, Keele J W & Smith T P (2002). Evaluation of single-nucleotide polymorphism in *CAPNI* for association with meat tenderness in cattle. *Journal of Animal Science* **80**: 3077-3085
- Page B T, Casas E, Quaas R L, Thallman R M, Wheeler T L, Shackelford S D, Koohmaraie M, White S N, Bennett G L, Keele J W, Dikeman M E & Smith T P (2004). Association of markers in the bovine *CAPNI* gene with meat tenderness in large crossbred populations that sample influential industry sires. *Journal of Animal Science* **82**: 3474-3481
- Pfaffl M W, Lange I G, Daxenberger A & Meyer H H D (2001). Tissue-specific expression pattern of estrogen receptors (ER): Quantification of *ER α* and *ER β* mRNA with real-time RT-PCR. *APMIS* **109**: 345-355
- Rotschild M, Jacobson C, Vaske D, Tuggle C, Wang L, Short T, Eckardts G, Sasaki S, Vincent A, McLaren D, Southwood, van der Steen H, Mileham A & Plastow G (1996). The estrogen receptor locus is associated with a major litter size in pigs. *Proceedings of the National Academy of Sciences* **93**: 201-205
- Sacravarty G, Vadodaria V P, Joshi C G, Brahmkhtri B P, Shah R R & Solanki J V (2008). Prolactin gene polymorphism and its association with economic traits in Kankerj cattle. *Indian Journal of Dairy Science* **61**(4): 273-276
- Spelman R J, Ford CA, McElhinney P, Gregory G C & Snell R G (2002). Characterization of DGAT1 gene in the New Zealand dairy population. *Journal of Dairy Science* **12**: 3514-3517
- Sorimachi H, Freiburg A, Kolmerer B, Ishiura S, Stier G, Gregorio C C, Labeit D, Linke W A, Suzuki K & Labeit S (1997). Tissue-specific expression and α -actin binding properties of the Z-disc titin: implications for the nature of vertebrate Z-discs. *Journal of Molecular Biology* **270**: 688-695
- Stasio L D & Rolando A (2005). A PCR-RFLP method for genotyping the myostatin locus in Piemontese cattle. *International Society for Animal Genetics* **36**: 511-542.
- Szreder T & Zwierzchowski L (2004a). Polymorphism within the bovine estrogen receptor- α gene 5'-region. *Journal of Applied Genetics* **45**(2): 225-236
- Szreder T & Zwierzchowski L (2004b). RFLP-TspRI polymorphism within exon 1 of the bovine estrogen receptor- α (*ER α*) gene. *Animal Science Papers and Reports* **22**: 543-549
- Szreder T & Zwierzchowski L (2007). Estrogen receptors and their genes - potential markers of functional and production traits of farm animals. *Molecular Biology Reports* **34**: 207-211
- Szreder T, Zelazowska B, Zwierzchowski L & Ch. S. Pareek (2007). A novel nucleotide sequence polymorphism in the 5'-noncoding region of bovine estrogen receptor α gene, the RFLP-*SnaBI*. *Biochemical Genetics* **45**: 255-262
- Szatkowska I, Grzesiak W, Jędrzejczak M, Dybus A, Zaborski D & Jankowiak D (2011). An analysis of CYP19, CYP21 and ER genotypes in Polish Holstein-Friesian cows with regard to the selected reproductive traits *Acta Veterinaria Brno* **80**: 65-71
- Udina I G (2001). Polymorphism of bovine prolactin gene: microsatellites, PCR-RFLP. *Russian Journal of Genetics* **37**(4): 407-411
- Wallis M (1974). The primary structure of bovine prolactin. *FEBS Letters* **44**: 205-208
- Wheeler T L, Shackelford S D & Koohmaraie M (1997). Standardizing collection and interpretation of Warner-Bratzler shear force and sensory tenderness data. *Proceeding of the 50th Annual Reciprocal Meat Conference*, **50**: 68-77
- White S N, Casas E, Wheeler T L, Shackelford S D, Koohmaraie M, Riley D G, Chase C C Jr, Johnson D D, Keele J W & Smith T P (2005). A new single nucleotide polymorphism in *CAPNI* extends the current tenderness marker test to include cattle of *Bos indicus*, *Bos taurus*, and crossbred descent. *Journal of Animal Science* **83**(9): 2001-2008
- Yeh F C, Yang R C, Boyle T B J, Ye Z H & Mao J X (1997). POPGENE, the User-Friendly Shareware for Population Genetic Analysis. Molecular Biology and Biotechnology Centre, University of Alberta, Canada
- Zahmatkesh A, Rahmani H R, Edriss M A & Sayed-Tabatabaei B E (2012). Estrogen receptor α (*ER- α*) gene and bovine performance: is there any relation? *Animal Science Papers and Reports* **30**(4): 373-381